

Công nghệ chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9 và ứng dụng trong chọn tạo giống cá thực phẩm

Nguyễn Thị Hải Thanh^{1*}, Phan Hoàng Duệ²

¹*Khoa Công nghệ sinh học, Trường Thủy sản và Khoa học sự sống, Trường Đại học Nha Trang, 2 Nguyễn Đình Chiểu, phường Bắc Nha Trang, Khánh Hòa, Việt Nam*

²*Trường Chuyên Lê Quý Đôn Nam Nha Trang, Đại lộ Nguyễn Tất Thành, phường Nam Nha Trang, Khánh Hòa, Việt Nam*

Ngày nhận bài 31/3/2026; ngày chuyển phản biện 2/4/2026;

ngày nhận phản biện 22/4/2026; ngày chấp nhận đăng 5/5/2026

Tóm tắt:

Công nghệ chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9, với ưu điểm về độ chính xác, hiệu quả và tính linh hoạt, đã trở thành công nghệ phổ biến trong nuôi trồng thủy sản (NTTS), góp phần nâng cao năng suất, chất lượng và quản lý dịch bệnh. Ứng dụng CRISPR/Cas9 trong chọn tạo giống cá đang phát triển nhanh chóng, nhắm vào các đặc điểm quan trọng như cải thiện tăng trưởng và phát triển cơ, giảm xương dăm, điều chỉnh sinh sản, tăng khả năng kháng bệnh và cải thiện sắc tố. Ở Việt Nam, các nghiên cứu CRISPR/Cas9 chủ yếu tập trung trong nông nghiệp, đặc biệt liên quan đến cải tạo giống cây trồng, trong khi ứng dụng trong chọn tạo giống cá vẫn còn nhiều khoảng trống và thách thức. Đồng thời, những trở ngại công nghệ như hiệu ứng chỉnh sửa sai mục tiêu, hiện tượng nhân đôi gen hay xuất hiện thể khảm, cần được giải quyết để ứng dụng hiệu quả chỉnh sửa gen trên đối tượng thủy sản. Bài báo xem xét tiềm năng của công nghệ này đối với việc cải thiện di truyền các loài cá thực phẩm, đồng thời phân tích những rào cản kỹ thuật và triển vọng ứng dụng công nghệ này nhằm hướng tới phát triển NTTS bền vững.

Từ khóa: cá thực phẩm, cải thiện di truyền, chỉnh sửa gen, chọn giống cá, CRISPR/Cas9, nuôi trồng thủy sản.

Chỉ số phân loại: 4.5, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: thanhnth@ntu.edu.vn

CRISPR/Cas9 technology and its application in edible fish breeding

Thi Hai Thanh Nguyen^{1*}, Hoang Due Phan²

¹Department of Biotechnology, School of Fisheries and Life Sciences, Nha Trang University,

2 Nguyen Dinh Chieu Street, Bac Nha Trang Ward, Khanh Hoa Province, Vietnam

²Le Quy Don High School for The Gifted - South Nha Trang, Nguyen Tat Thanh Boulevard,

Nam Nha Trang Ward, Khanh Hoa Province, Vietnam

Received 31 March 2026; revised 22 April 2026; accepted 5 May 2026

Abstract:

CRISPR/Cas9 technology, characterised by its precision, efficiency, and flexibility, has emerged as a popular and powerful platform that significantly enhances productivity, product quality, and disease control. The application of CRISPR/Cas9 technology in fish breeding is rapidly growing, targeting key traits, such as enhanced growth and muscle development, reduction of intermuscular bones, control of reproductive capacity, and better resistance to diseases, as well as pigmentation improvement. In Vietnam, significant advancements in CRISPR/Cas9 research have been primarily observed within the agricultural sector, particularly in crop improvement. Nonetheless, considerable gaps and challenges remain regarding its application in fish breeding. Furthermore, technical challenges, including off-target effects, genome duplication, and mosaicism, need to be addressed to achieve the effective deployment of genome editing in aquaculture. This article explores the potentials of this technology in enhancing the genetics of edible fish, as well as analyses the technical challenges associated with its implementation and the prospects of applying it for sustainable aquaculture development.

Keywords: aquaculture, CRISPR, edible fish, fish breeding, gene editing, genetic improvement.

Classification numbers: 4.5, 4.6

1. Đặt vấn đề

An ninh lương thực liên quan đến khả năng đảm bảo nguồn thực phẩm cho dân số ngày càng tăng nhanh hiện vẫn đang là thách thức toàn cầu. Sự thu hẹp đất nông nghiệp đang đặt ra những thách thức lớn trong hoạt động trồng trọt và chăn nuôi. Vì vậy, việc lựa chọn các nguồn thực phẩm thay thế, trong đó có thủy sản, trở thành xu hướng tất yếu. Từ năm 1961 đến năm 2017, mức tiêu thụ thủy sản đã tăng nhanh chóng với tốc độ tăng trưởng hàng năm đạt 3,1%, cao hơn tốc độ tăng trưởng của sản xuất nông nghiệp trên cạn (2,1%) và gần gấp đôi tốc độ tăng trưởng dân số toàn cầu (1,6%) [1]. Tuy nhiên, sản lượng đánh bắt thủy sản không tăng lên trong suốt hai thập kỷ qua. Nếu nhu cầu tiêu thụ tiếp tục tăng, việc mở rộng sản xuất bằng các phương thức phù hợp hơn là điều bắt buộc. Trong bối cảnh đó, NTTS được coi là giải pháp đầy hứa hẹn [1].

Hiện nay, đối tượng khai thác của ngành thủy sản gồm 543 nhóm loài động vật có vỏ, 362 loài cá vây, 104 loài động vật thân mềm, 62 loài giáp xác và 15 loài động vật thủy sinh khác, góp phần quan trọng vào việc sản xuất nhiều dòng sản phẩm với nhiều loại protein, vitamin, khoáng chất và vi lượng [2]. Đặc biệt, cá và các sản phẩm thủy sản là nguồn cung axit béo không bão hòa đa chuỗi dài - dưỡng chất quan trọng cho sức khỏe con người và không có nhiều trong hầu hết các nguồn protein trên cạn. Hơn nữa, sản xuất thủy sản có hiệu quả chuyển đổi thức ăn và dinh dưỡng cao hơn so với đa số hình thức chăn nuôi trên cạn. Tiềm năng mở rộng của ngành này cũng rất lớn, khi mới chỉ khoảng 1% diện tích biển được khai thác cho NTTS [2].

Tuy nhiên, NTTS đang đối mặt với nhiều thách thức như thoái hóa giống, dịch bệnh bùng phát, và các tác động xấu của môi trường, nhu cầu về cải thiện đặc điểm hình thái và tăng trưởng trong khi cần đảm bảo tính bền vững. Chính vì thế, nhiều nghiên cứu đã và đang được triển khai nhằm hướng đến mô hình NTTS bài bản, hệ thống hơn. Một hướng đi quan trọng là kết hợp công nghệ sinh học hiện đại với phương pháp lai tạo truyền thống cải thiện di truyền con giống thủy sản, từ đó nâng cao năng suất NTTS. Trong số các công nghệ mới, CRISPR/Cas9 nổi bật nhờ khả năng chỉnh sửa chính xác những vị trí cụ thể trong bộ gen, từ đó nâng cao tiềm năng di truyền của các loài thủy sản

[3]. Bài báo này giới thiệu khái niệm và cơ chế hoạt động, cũng như đánh giá khả năng ứng dụng công nghệ CRISPR/Cas9 để cải thiện di truyền loài cá nuôi, các hạn chế còn tồn tại và triển vọng của công nghệ này để đóng góp vào sự phát triển của mô hình sản xuất thực phẩm bền vững trên thế giới, bao gồm Việt Nam.

2. Phương pháp thu thập và lựa chọn tài liệu

Tài liệu được thu thập thông qua việc tìm kiếm có hệ thống trên các cơ sở dữ liệu khoa học uy tín như PubMed, Scopus, Web of Science và Google Scholar. Các từ khóa được sử dụng bao gồm “CRISPR/Cas9”, “gene editing”, “fish breeding”, “edible fish”, “aquaculture”, “genetic improvement”, “disease resistance”, “growth traits” và các từ khóa liên quan. Tiêu chí lựa chọn tài liệu bao gồm: (i) các bài báo khoa học được bình duyệt (peer-reviewed), (ii) công bố trong khoảng thời gian gần đây (ưu tiên từ 2010 đến 2026), (iii) nội dung liên quan trực tiếp đến ứng dụng CRISPR/Cas9 trong chỉnh sửa gen và chọn giống cá, và (iv) có dữ liệu thực nghiệm hoặc tổng quan có giá trị học thuật cao. Các tài liệu trùng lặp, không rõ nguồn gốc hoặc không liên quan trực tiếp đến đối tượng nghiên cứu được loại bỏ. Quy trình sàng lọc được thực hiện qua các bước: đọc tiêu đề, tóm tắt và toàn văn để đánh giá mức độ phù hợp. Các tài liệu cuối cùng được tổng hợp, phân tích và trích dẫn nhằm đảm bảo tính cập nhật, chính xác và độ tin cậy khoa học cho bài tổng quan.

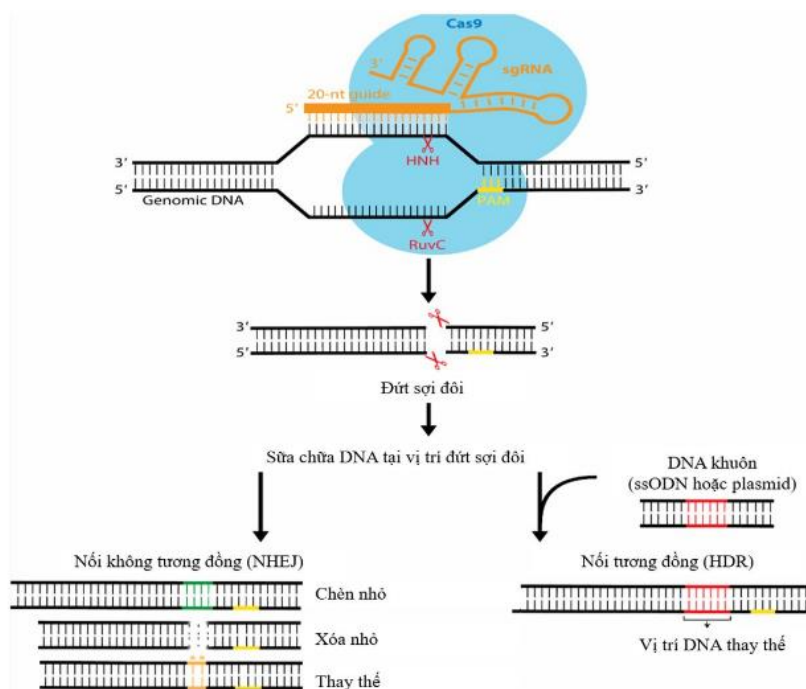
3. Cơ chế hoạt động của hệ thống chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9

Hệ thống CRISPR/Cas9 là một công cụ chỉnh sửa gen có nguồn gốc từ cơ chế phòng vệ tự nhiên của vi khuẩn chống lại sự xâm nhập của thể thực khuẩn [4]. Y. Ishino và cs (1987) [4] gọi các trình tự lặp là CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats). Hệ thống CRISPR được xác định là một phần của hệ miễn dịch trong vi khuẩn. Trong môi trường sống, khi vi khuẩn bị tấn công bởi thể thực khuẩn, chúng có thể “ghi nhớ” một đoạn DNA của virus bằng cách tích hợp đoạn trình tự đó vào vùng CRISPR trên hệ gen. Nói cách khác, một phần nhỏ DNA của thể thực khuẩn được cắt và chèn vào vùng CRISPR trong bộ gen của vi khuẩn. Những đoạn ghi nhớ này được gọi là “spacers”, xen kẽ giữa các trình tự lặp lại ngắn (repeats). Khi thể thực khuẩn xâm

nhập lần sau, vi khuẩn sẽ phiên mã các trình tự CRISPR thành RNA, được gọi là pre-crRNA (precursor CRISPR RNA). Pre-crRNA sau đó được cắt nhỏ thành các phân tử crRNA, trong đó mỗi đoạn crRNA mang thông tin từ một đoạn spacer (từ thể thực khuẩn đã từng xâm nhập). Tiếp theo, crRNA kết hợp với một phân tử RNA khác là tracrRNA, tạo thành một tổ hợp RNA dẫn đường (gRNA - guide RNA). gRNA liên kết với enzyme cắt DNA (Cas9) tạo thành phức hợp CRISPR/Cas9 hoàn chỉnh để tấn công mục tiêu (cắt vật chất di truyền của thể thực khuẩn). Trong công nghệ chỉnh sửa gen, crRNA và tracrRNA được gộp lại thành một phân tử duy nhất gọi là sgRNA (single-guide RNA) [5]. Cas9 khi kết hợp với sgRNA có khả năng tìm tới đoạn DNA mục tiêu và tạo một vết cắt đứt đôi (double-strand break - DBS).

Quá trình phòng vệ CRISPR/Cas9 bắt đầu khi Cas9 gắn với gRNA tạo thành phức hợp protein-RNA. Phức hợp này di chuyển trong nhân tế bào để tìm đến đoạn DNA mục tiêu. Tuy nhiên, Cas9 không gắn vào mọi vị trí có trình tự bổ sung với gRNA ngay lập tức. Trước tiên, Cas9 cần nhận diện được một trình tự bảo thủ ngắn gọi là PAM (protospacer adjacent motif). Ví dụ, đối với Cas9 có nguồn gốc từ vi khuẩn *Streptococcus pyogenes*, PAM có dạng NGG (trong đó “N” là bất kỳ base nào, còn “GG” là hai nucleotide Guanine liên tiếp). Khi Cas9 tìm thấy PAM nằm ngay cạnh vùng DNA có trình tự tương ứng với trình tự gRNA, enzyme này bắt đầu mở xoắn chuỗi DNA kép tại vị trí đó và cho phép gRNA bắt cặp với sợi DNA bổ sung. Nếu trình tự khớp chính xác, hai vùng chức năng có hoạt tính cắt DNA bên trong enzyme - gọi là HNH và RuvC - sẽ được hoạt hóa và cắt đứt cả hai sợi DNA tại vị trí xác định (DBS). Trong phiên bản cải tiến dùng trong phòng thí nghiệm với mục đích chỉnh sửa gen, sgRNA được thiết kế để có vùng trình tự spacer bổ sung với đoạn DNA mục tiêu cần chỉnh sửa. Khi được đưa vào tế bào, sgRNA định hướng Cas9 đến đúng vị trí cần can thiệp trên hệ gen, tạo ra DBS theo mong muốn [6].

Sau khi cắt DNA, quá trình chỉnh sửa gen được bắt đầu. Có hai cơ chế chỉnh sửa gen: NHEJ (non - homologous end joining - ghép nối tận cùng không tương đồng) và HDR (homology-directed repair - sửa chữa định hướng tương đồng) (hình 1).



Hình 1. Cơ chế ghép nối không tương đồng và ghép nối tương đồng của hệ thống chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9 [7].

Đối với ghép nối không tương đồng, chuỗi DNA đứt gãy được nối lại trực tiếp theo hệ thống sửa chữa nội sinh. Tuy nhiên, quá trình này có thể xảy ra đột biến ngẫu nhiên do thiếu sự chính xác trong quá trình ghép nối, gây ra hiện tượng mất đoạn, thêm đoạn, hoặc thay đổi khung đọc mở (thay đổi trình tự các mã bộ ba quy định amino acid của chuỗi polypeptide). Đối với ghép nối tương đồng (HDR), tế bào sửa chữa DBS dựa trên một khuôn DNA có trình tự tương đồng với đoạn DNA bị đứt. Thông thường, trong tế bào, khi phát hiện tổn thương DBS, tế bào có xu hướng sao chép trình tự nucleotide của một đoạn DNA khác tương đồng. Lợi dụng tính chất này, các nhà khoa học có thể tạo một đoạn DNA tương đồng với đoạn DNA mục tiêu cần chỉnh sửa. Ngay sau khi DNA bị cắt, nuclease cắt bỏ một đoạn nhỏ tại hai đầu của chuỗi DNA bị đứt gãy, tạo nên đầu tù 3' (3' overhang) - sợi đơn DNA cần thiết cho việc bắt cặp với khuôn tương đồng. Đầu tù 3' sẽ tìm đến một trình tự tương đồng (thường là chromatid chị em hoặc khuôn DNA ngoại sinh được cung cấp) và xâm nhập vào chuỗi xoắn đôi của khuôn này để bắt cặp. Từ đầu 3' vừa xâm nhập, DNA polymerase sẽ bắt đầu tổng hợp đoạn DNA mới, dựa theo khuôn

trình tự của bản sao tương đồng. Quá trình này đảm bảo đoạn bị đứt được sao chép chính xác. Sau khi đoạn DNA mới được tổng hợp, sợi DNA ban đầu rút khỏi khuôn, bắt cặp lại với sợi còn lại tại vị trí cắt, và hai đầu được nối lại nhờ enzyme ligase. Kết quả là DNA được sửa chữa chính xác theo khuôn [5].

Kết hợp công nghệ CRISPR/Cas9 với HDR và NHEJ có thể giúp các nhà khoa học chỉnh sửa được đoạn gen với độ chính xác cao hoặc gây ra đột biến có chủ đích. Con đường sửa chữa bằng cách nối đầu không tương đồng NHEJ thường để lại các đoạn chèn và/hoặc đoạn xóa (indels), gây ra sự thay đổi khung đọc và làm bất hoạt chức năng gen, do đó làm thay đổi chức năng gen, tạo ra các tính trạng mới của cơ thể. Do vậy, CRISPR/Cas9 là một công cụ rất hữu ích khi nghiên cứu chức năng gen. Một trong những ưu điểm quan trọng nhất của CRISPR/Cas9, đặc biệt trong bối cảnh ứng dụng trong nông nghiệp, là khả năng tạo ra các đột biến định hướng mà không cần đưa bất kỳ trình tự DNA ngoại lai nào vào hệ gen của sinh vật. Điều này có ý nghĩa lớn đối với công chúng và quy định pháp lý, vì các sản phẩm không chứa DNA ngoại lai này không bị coi là sinh vật biến đổi gen (GMO) theo các quy định pháp lý của Việt Nam cũng như nhiều nước trên thế giới [8, 9].

4. Các biến thể CRISPR/Cas9

Hệ thống CRISPR/Cas9 đã tạo ra những tiến bộ đáng kể trong kỹ thuật di truyền, đặc biệt là trong việc sửa đổi Cas9 và sgRNA để đạt được khả năng chỉnh sửa chính xác hơn. Trong khi CRISPR/Cas9 truyền thống đã chứng minh được hiệu quả trong việc chỉnh sửa gen, kỹ thuật này vẫn bị giới hạn bởi những nhược điểm như: chỉnh sửa sai mục tiêu dẫn đến đột biến DNA không mong muốn, đưa protein Cas9 vào tế bào do kích thước lớn; nhu cầu về các phương pháp an toàn và hiệu quả, và phản ứng miễn dịch tiềm ẩn chống lại protein Cas9. Những hạn chế khác gồm các mất đoạn lớn và sự sắp xếp lại nhiễm sắc thể tại vị trí mục tiêu, các chỉnh sửa không hoàn chỉnh dẫn đến hiện tượng khảm và các quy trình xác định đột biến phức tạp, tốn thời gian [10]. Vì vậy, các công nghệ chỉnh sửa gen mới xuất hiện giúp khắc phục được những giới hạn của CRISPR/Cas9 truyền thống.

4.1. *Dead Cas9 (dCas9)*

dCas9 là một biến thể đặc biệt của Cas9 đã bị bất hoạt vùng nuclease, khiến enzyme này không còn khả năng cắt DNA. Mặc dù vậy, nó vẫn giữ được chức năng định vị chính xác nhờ sự dẫn đường của sgRNA. Điều này cho phép dCas9 trở thành một công cụ mạnh mẽ trong điều hòa biểu hiện gen mà không tạo ra đột biến vĩnh viễn. Ứng dụng quan trọng của dCas9 là trong hệ thống CRISPRi (CRISPR interference), tại đây dCas9 ức chế sự phiên mã bằng cách chặn RNA polymerase, hoặc trong CRISPRa (CRISPR activation), nơi dCas9 được gắn với các yếu tố hoạt hóa để kích thích quá trình phiên mã [11]. Trong NTTS, dCas9 có thể được sử dụng để kiểm soát các gen ảnh hưởng đến tăng trưởng cơ bắp như *mstn* (myostatin), các gen miễn dịch như *tlr* (toll-like receptor) và *rag1* (recombination activating gene 1), hoặc các gen điều hòa sinh sản như *gnrh* (gonadotropin-releasing hormone). Ưu điểm lớn nhất của dCas9 là khả năng điều hòa biểu hiện gen một cách có thể đảo ngược, khi dùng dCas9 để ức chế (CRISPRi) hoặc kích hoạt (CRISPRa) một gen, sự thay đổi này không làm biến đổi vĩnh viễn trình tự DNA. Điều này giúp mở ra hướng đi an toàn hơn so với chỉnh sửa gen truyền thống.

4.2. *Cas9 Nickase (Cas9n)*

Cas9 nickase là một dạng biến đổi khác của Cas9, trong đó chỉ một trong hai vùng nuclease được giữ lại, điều này khiến cho Cas9n chỉ tạo ra vết cắt đơn mạch (single-strand break) thay vì đứt gãy kép như Cas9 truyền thống. Khi hai Cas9n được thiết kế để nhắm vào hai vị trí gần nhau trên hai sợi đối diện, hệ thống này có thể tạo ra một đứt gãy kép chính xác nhưng ít rủi ro bị sai vị trí hơn [10]. Cas9n, do đó được đánh giá cao về độ chính xác, giảm thiểu nguy cơ gây ra đột biến sai mục tiêu. Trong lĩnh vực thủy sản, Cas9n đang được nghiên cứu như một giải pháp tối ưu để chỉnh sửa các gen quan trọng đối với tốc độ sinh trưởng và khả năng thích nghi với môi trường mặn, nơi việc duy trì tính chính xác của chỉnh sửa là yếu tố then chốt cho hiệu quả ứng dụng.

4.3. *Chỉnh sửa gen chính xác (prime editing)*

Prime editing (PE) là một công nghệ chỉnh sửa gen thế hệ mới cho phép chèn, xóa hoặc thay thế chính xác từng nucleotide trong hệ gen mà không cần tạo ra đứt gãy kép

DNA cũng như không đòi hỏi mẫu DNA ngoại lai. Cơ chế của công nghệ này dựa trên sự phối hợp của ba thành phần chính: Cas9 nickase, enzyme phiên mã ngược (reverse transcriptase enzyme - RT) và một loại RNA dẫn đặc biệt gọi là pegRNA (prime editing guide RNA). Cas9 nickase, một biến thể chỉ có khả năng cắt một sợi DNA, được pegRNA dẫn đến đúng vị trí mục tiêu và tạo ra vết cắt đơn mạch. Sau đó, enzyme phiên mã ngược sử dụng phần khuôn mẫu mang trong pegRNA để tổng hợp một đoạn DNA mới chứa trình tự mong muốn. Đoạn DNA mới này được gắn vào vị trí cắt và nhờ vào cơ chế sửa chữa tự nhiên của tế bào, nó sẽ được tích hợp vào bộ gen, thay thế hoặc bổ sung cho đoạn cũ. Với cách tiếp cận giống như một hệ thống “tìm kiếm và thay thế” trực tiếp trên DNA [12], PE mang lại độ chính xác cao, giảm thiểu đột biến sai mục tiêu và mở ra triển vọng ứng dụng mạnh mẽ trong chọn giống thủy sản, chẳng hạn như chỉnh sửa gen *mstn* để tăng sinh trưởng cơ bắp, cải thiện các gen miễn dịch như *rag1* hoặc *tlr3*, hay nâng cao khả năng chịu đựng với điều kiện môi trường khắc nghiệt.

5. Tiềm năng của CRISPR/Cas9 trong cải thiện di truyền các loài cá thực phẩm

Công nghệ CRISPR/Cas9 có nhiều ưu điểm so với các phương pháp tạo giống truyền thống bằng cách rút ngắn đáng kể thời gian thế hệ và cho phép kiểm soát chính xác các biến đổi di truyền. Một số đặc tính quan trọng thường được quan tâm trong các nghiên cứu chỉnh sửa gen trên đối tượng cá bao gồm khả năng tăng trưởng và phát triển cơ, sinh sản, kháng bệnh, sắc tố và chuyển hóa axit béo omega-3. CRISPR/Cas9 đã được chứng minh là công cụ hiệu quả để tạo ra những biến đổi có chủ đích trong hệ gen và nhờ đó cải tiến những tính trạng mục tiêu trên các đối tượng thủy sản [13-18].

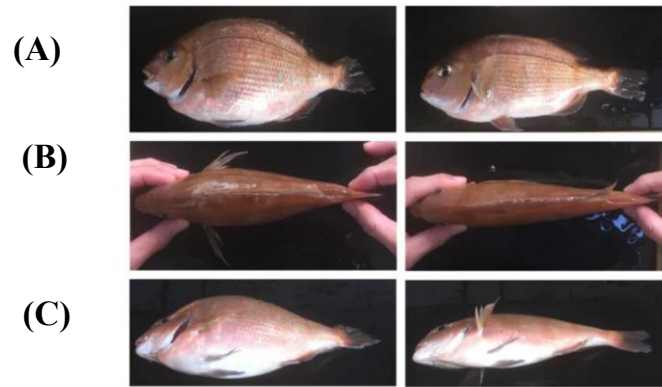
5.1. Tăng trưởng và phát triển cơ

Tốc độ tăng trưởng là yếu tố quan trọng với các loài thủy sản nuôi, đặc biệt là cá thực phẩm [16]. Cá tăng trưởng chủ yếu nhờ quá trình phì đại và tăng sản tế bào cơ xương. Sự tăng trưởng tổng thể có thể bị ảnh hưởng bởi hormone và các yếu tố điều hòa sinh cơ (myogenic regulatory factors - MRF). Các hormone như hormone tăng trưởng và yếu tố giống insulin điều chỉnh sự phát triển cơ, đồng thời ảnh hưởng đến nhiều quá trình

sinh lý khác. Vì vậy, việc nhắm mục tiêu vào MRF giúp thúc đẩy sự phát triển cơ trong khi không gây tác dụng đa hình [17].

Phát triển cơ thông qua MRF chủ yếu được thực hiện bằng hai con đường tổng hợp protein: con đường điều hòa dương tính mTOR (mechanistic target of rapamycin), và con đường điều hòa âm tính myostatin-Smad2/3 (Myostatin/Smad2/Smad3 pathway). mTOR cần cho nhiều chức năng của tế bào, chẳng hạn như quá trình tự chết. Trong khi myostatin (*mstn*) thuộc siêu họ yếu tố tăng trưởng chuyển dạng β (transforming growth factor beta - TGF- β), điều hòa khối lượng cơ bằng cách liên kết với protein Smad, giữ tế bào cơ ở pha G0/G1 và G2 từ đó ngăn cản quá trình phân hóa và tăng sinh cơ [17].

Công nghệ CRISPR/Cas9 đã được sử dụng để loại bỏ gen *mstn* ở các loài cá thương mại như cá nheo Mỹ *Ictalurus punctatus*, cá chép *Cyprinus carpio*, cá tráp đỏ *Pagrus major*, cá rô phi *Oreochromis niloticus*, cá bơn vĩ *Paralichthys olivaceus*, cá ngừ (cá thiều) *Culter alburnus* nhằm tăng trưởng và phát triển cơ bắp [14-17]. Dòng cá nheo Mỹ tăng trưởng nhanh, trọng lượng cơ thể trung bình của cá bột tăng 29,7% so với loài hoang dại nhờ bất hoạt gen *mstn* [15]. Dòng cá tráp đỏ đột biến *mstn* có khối lượng cơ xương tăng 16% và giống đồng hợp tử được tạo thành chỉ trong hai năm, ít hơn nhiều so với các phương pháp lai tạo truyền thống (hình 2) [14]. Hơn nữa, sự đột biến *mstn* còn giúp cải thiện thành phần và kết cấu phi lê cá, tăng khả năng giữ nước và hàm lượng ẩm, đồng thời giảm nhẹ hàm lượng collagen [14].



Hình 2. Dòng cá tráp đỏ *Pagrus major* đột biến bất hoạt gen *mstn* (bên trái) tăng trưởng cơ 16% so với loài hoang dại (bên phải) [14]. (A) Cá chụp từ trên xuống; (B) Cá chụp mặt lưng; (C) Cá chụp mặt bụng.

Thụ thể MC4R (melanocortin 4 receptor) kiểm soát ăn uống, trao đổi chất và sinh lý. Chỉnh sửa gen *mc4r* bằng CRISPR/Cas9 ở cá nheo Mỹ *Ictalurus punctatus* giúp chúng tăng trưởng nhanh hơn cá hoang dại, cho thấy tiềm năng ứng dụng trong nuôi thương phẩm [19]. Gen *pomc* (pro-opiomelanocortin) cũng ảnh hưởng đến ăn uống, tăng trưởng và chuyển hóa; bất hoạt *pomc* ở cá ngựa vằn làm tăng khối lượng cơ thể, cải thiện hệ số chuyển đổi thức ăn mà không gây béo phì [20]. Kết quả này chứng minh, *pomc* là ứng viên tiềm năng để nâng cao năng suất thủy sản bằng CRISPR/Cas9.

5.2. Tăng khẩu vị và hiệu suất chuyển hóa thức ăn

Giống cá nóc hồ *Takifugu rubripes* mang đột biến thụ thể leptin (*lepr*) có thành phần thức ăn đa dạng hơn, ăn nhiều hơn và do đó cân nặng cũng lớn hơn so với giống không mang đột biến. Giống cá nóc hồ đột biến *lepr* có trọng lượng cao gấp 1,9 lần so với các giống thông thường [21] và hiện đã được cấp phép thương mại hóa cho Công ty Regional Fish (Nhật Bản).

Protein phosphatidylinositol 3-kinase (*pi3k*) đóng vai trò thiết yếu trong quá trình chuyển hóa và cân bằng năng lượng ở động vật có xương sống. Trên cá diếc Gibel (*Carassius gibelio*), đột biến gen *pik3r1* giúp tăng sinh trưởng và tăng hiệu suất chuyển hóa thức ăn. Sự gián đoạn ở gen *pik3r1* đã tăng cường tín hiệu PI3K/AKT (protein kinase B)/mTOR, làm giảm triglyceride, axit amin và lactate nhưng không ảnh hưởng đến nồng

độ glucose, đồng thời cải thiện đáng kể mức độ tăng trưởng, sử dụng lipid và hiệu quả chuyển đổi thức ăn ở cá diếc đột biến [22].

T1R (taste receptor type 1) là một họ thụ thể liên kết với protein G đặc hiệu vị giác, bao gồm T1R1, T1R2 và T1R3, được mã hóa bởi các gen tương ứng là *tas1r1*, *tas1r2* và *tas1r3*. Nghiên cứu trên cá ngựa vằn *Danio rerio* cho thấy, việc xóa gen *tas1r1* đã cải thiện đáng kể hiệu suất tăng trưởng và khả năng hấp thụ protein thực vật [23]. Do đó, việc chỉnh sửa gen *tas1r1* ở các loài cá nuôi có tiềm năng tăng khả năng sử dụng thức ăn có nhiều protein thực vật hơn.

5.3. Loại bỏ hoặc giảm thiểu xương dăm (IB)

Xương dăm (intermuscular bone - IB) là yếu tố thường xuyên gây ra tình trạng hóc dị vật do đặc điểm kích thước nhỏ, đầu nhọn và hình dạng chữ Y, khiến chúng khó bị phát hiện trong quá trình nhai thực phẩm. Công nghệ chỉnh sửa gen đã cho thấy kết quả đầy hứa hẹn trong việc giảm thiểu hoặc loại bỏ xương dăm ở các loài cá như cá chép *Cyprinus carpio*, cá trắm mõm tù *Megalobrama amblycephala*, cá diếc Gibel lưỡng bội *Carassius gibelio* và cá diếc *C. auratus* liên quan đến các gen *bmp6* (bone morphogenetic protein 6) và *runx2* (yếu tố phiên mã họ RUNX 2b) [24, 25].

Bên cạnh đó, các gen như Twist (basic helix loop helix transcription factor), và gen quy định yếu tố phiên mã *sp7* (*Sp7* transcription factor) cũng liên quan đến quá trình biệt hóa tế bào xương. Gen twist tham gia điều hòa quá trình chuyển đổi tế bào trung mô thành nguyên bào xương và thay đổi biểu hiện trong các giai đoạn phát triển IB; việc giảm biểu hiện gen này có thể gây bất thường cấu trúc xương. Gen *sp7* (Osterix) đóng vai trò quan trọng trong biệt hóa nguyên bào xương, nhưng đột biến *sp7* ở cá chép gây ra nhiều dị tật nghiêm trọng như biến dạng cột sống, xương sọ và giảm kích thước cơ thể, cho thấy đây chưa phải là ứng cử viên phù hợp để loại bỏ IB [26].

Trong khi đó, gen *runx2* là yếu tố phiên mã có vai trò chủ chốt trong quá trình tạo xương, điều hòa tăng sinh và biệt hóa tế bào tạo xương, do đó được coi là “kiến trúc sư” điều phối sự phát triển xương dăm trong cơ thể. Đột biến *runx2b* ở cá ngựa vằn *Danio rerio* cho thấy có thể loại bỏ hoàn toàn IB mà không ảnh hưởng đáng kể đến tăng trưởng,

khả năng bơi lội hay mật độ khoáng xương. Công nghệ này cũng đã được áp dụng thành công trên cá diếc Gibel và cá trắm mõm tù, tạo ra các dòng cá không xương dăm với năng suất cao, khả năng kháng bệnh tốt và hiệu quả sử dụng thức ăn cao. Cuối năm 2025, Trung Quốc đã công bố tạo thành công cá diếc *C. gibelio* không xương dăm nhờ bất hoạt gen *runx2b* bằng CRISPR/Cas9. Giống cá Zhongke số 6 được cải tiến với ba ưu điểm nổi bật gồm năng suất cao, khả năng kháng bệnh tốt trong môi trường nuôi thủy sản mật độ lớn và tiết kiệm thức ăn, trong khi vẫn duy trì lượng protein chất lượng cao tương đương [27].

Nhìn chung, chỉnh sửa gen để giảm hoặc loại bỏ xương dăm ở các loài cá thực phẩm là hướng tiếp cận đầy tiềm năng. Tuy nhiên, cần có thêm các nghiên cứu toàn diện nhằm đánh giá ảnh hưởng lâu dài của việc chỉnh sửa các gen liên quan đến IB đối với các đặc tính kinh tế quan trọng như sinh trưởng, khả năng vận động, sức khỏe và khả năng kháng bệnh của cá.

5.4. Sinh sản

Hệ thống CRISPR/Cas9 đang nhắm vào các gen liên quan đến sinh sản ở cá chủ yếu để tìm hiểu cơ chế di truyền điều chỉnh sự phân biệt giới tính và xác định giới tính. Đặc biệt, tuyến sinh dục được coi là cơ quan sinh sản quan trọng tham gia vào quá trình điều hòa giới tính và là nơi phân biệt và tạo ra các tế bào mầm từ các tế bào mầm nguyên thủy (primordial germ cells - PGC) trong phôi. Một số gen được biết góp phần vào quá trình hình thành và duy trì PGC là *dead end (dnd)*, *nanos C2HC-type zinc finger 2 (nanos2)* và *nanos C2HC-type zinc finger 3 (nanos3)*, gợi ý việc bất hoạt các gen này có thể dẫn đến vô sinh ở cá [28, 29]. Việc ứng dụng chỉnh sửa các gen liên quan đến các gen gây vô sinh mở ra hướng chọn lọc đơn dòng (clonal selection) thông qua tạo ra các cá thể vô sinh làm “vật chủ nhận”, cấy ghép tế bào mầm từ dòng mong muốn, từ đó duy trì và nhân nhanh các kiểu gen ưu việt. Bên cạnh đó, việc tạo quần thể vô sinh ở các loài nuôi ngoại lai giúp kiểm soát sinh sản, hạn chế khả năng thoát ra môi trường và sinh sản ngoài tự nhiên. Đây được xem là một giải pháp sinh học quan trọng nhằm giảm nguy cơ hình thành các quần

thể loài ngoại lai xâm hại, góp phần bảo vệ đa dạng sinh học và cân bằng hệ sinh thái [29].

5.5. Tăng khả năng kháng bệnh

Cá là sinh vật nhạy cảm, rất dễ mắc các bệnh truyền nhiễm. Các nỗ lực quản lý bệnh truyền nhiễm tập trung vào việc phát triển vắc-xin và chọn giống kháng bệnh. Tuy nhiên, phương pháp tiêm chủng còn tốn kém và mất thời gian, trong khi hiệu quả của lai tạo truyền thống chậm và thiếu ổn định [30].

Ký sinh trùng như động vật nguyên sinh, giun dẹp và giáp xác thường gây bệnh nghiêm trọng ở cá thực phẩm, đặc biệt khi môi trường thay đổi, gây thiệt hại kinh tế lớn; trong khi đó, việc sử dụng thuốc và kháng sinh có thể ảnh hưởng tiêu cực đến môi trường và an toàn thực phẩm. Công nghệ CRISPR/Cas9 mở ra hướng tiếp cận mới khi có thể nhắm mục tiêu trực tiếp vào DNA ký sinh trùng. Ví dụ, chỉnh sửa hệ gen của *Chilodonella piscicola* đã làm giảm 40% tỷ lệ sống sót của ký sinh trùng, cho thấy tiềm năng phát triển các biện pháp kiểm soát bệnh đặc hiệu và hiệu quả hơn [31].

5.6. Cải thiện sắc tố

Sắc tố là một đặc điểm kinh tế quan trọng, ảnh hưởng giá trị thương phẩm và còn có ý nghĩa trong an toàn sinh học. Nhiều gen liên quan đến sắc tố như họ vận chuyển chất tan số 5 họ 24 *slc24a5* (solute carrier family 24 member 5), họ vận chuyển chất tan số 2 họ 45 *slc45a2* (solute carrier family 45 member 2), gen gây bạch tạng toàn thân II *oca2* (*Oculocutaneous albinism II*) và protein tín hiệu Agouti *ASIP* (*Agouti signaling protein*) đã được chỉnh sửa bằng CRISPR/Cas9, dẫn đến thay đổi hoặc mất sắc tố ở nhiều loài cá, qua đó làm rõ vai trò của chúng trong hình thành melanin và biến dị màu sắc. Tyrosinase (*Tyr*) có vai trò quan trọng trong tổng hợp melanin; đột biến gen *Tyr* thường gây bạch tạng với biểu hiện thiếu sắc tố và bất thường ở mắt [32]. Ngoài ra, gen *Scarb1* (scavenger receptor class b member 1) liên quan đến tích lũy carotenoid cũng ảnh hưởng đến màu sắc, đặc biệt là màu đỏ ở cá. Việc loại bỏ gen này làm giảm sắc tố carotenoid, chứng tỏ vai trò như một “công tắc” điều khiển màu sắc [33]. Những nghiên cứu này cho thấy tiềm năng ứng dụng chỉnh sửa gen trong cải thiện đặc điểm màu sắc ở cá thực phẩm.

6. Những thành tựu của công nghệ CRISPR/Cas9 tại Việt Nam

Công nghệ chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9 được ứng dụng ở Việt Nam từ năm 2017 và có bước phát triển mạnh mẽ trong y học và nông nghiệp. Đây là công cụ hữu ích chỉnh sửa các sai hỏng gen gây ra các bệnh di truyền như tim mạch, ung thư... được phát triển bởi các nhóm nghiên cứu của Viện Nghiên cứu VinMec [34]. Những thành tựu chủ yếu trong nông nghiệp bao gồm chỉnh sửa gen ở cây lúa để tăng năng suất và chất lượng của hạt gạo [35], bất hoạt gen *SlIAA9* (*Solanum lycopersicum* Auxin/Indole-3-Acetic Acid Protein 9) tạo thành tính trạng cây cà chua không hạt [36], chỉnh sửa gen ở cây đậu tương nhằm loại bỏ đường khó tiêu raffinose, nâng cao tính chống chịu bệnh của cây thuốc lá, đu đủ và cam quýt [37]. Trong lĩnh vực chăn nuôi, công nghệ này giúp cải tạo bò vàng Việt Nam theo hướng chuyên thịt, tạo bê con có lượng cơ tăng ít nhất 15% [37]. Ngoài ra, nghiên cứu trên chuột đã loại bỏ chức năng gen *Lep* (leptin), tạo ra chuột béo phì [38].

Trên các đối tượng thủy sản, V.T. Nguyen và cs (2024) [39] đã thiết lập quy trình bất hoạt con đường tín hiệu điều hòa đáp ứng chống oxy hóa nội sinh *keap1a/Nrf2* (Kelch-like ECH-associated protein 1a/nuclear factor erythroid 2-related factor 2) trên cá mô hình là cá ngựa vằn *D. rerio* sử dụng công nghệ CRISPR/Cas9, và nghiên cứu khả năng bảo vệ chống lại các gốc tự do của dịch chiết từ thực vật, như rễ cây Thổ phục linh, cao rễ lông sâm Ngọc linh [40], tảo *Spirulina* [41]. Trên đối tượng cá biển, T.H.T. Nguyen và cs (2025) [42] đã nghiên cứu quy trình tạo vector CRISPR mang thể định hướng gen *Tyr* trên cá khoang cổ *A. ocellaris*, sau khi vi tiêm vào phôi cá khoang cổ cho kiểu hình bạch tạng. Đồng thời, vector mang gen *Scarbl* cũng được thiết kế và vi tiêm vào phôi cá khoang cổ *A. ocellaris*, kết quả tạo ra thể đột biến giảm nhẹ thành phần sắc tố carotenoid ở giai đoạn phôi. Tuy nhiên, Việt Nam chưa có các công bố về việc sử dụng hệ thống CRISPR/Cas9 để tạo giống trên đối tượng cá thực phẩm.

7. Những thách thức kỹ thuật trong cải tiến di truyền bằng công nghệ CRISPR/Cas9

Mặc dù công nghệ CRISPR/Cas9 cho thấy tiềm năng to lớn trong việc chỉnh sửa gen chính xác, nhanh chóng và có mục tiêu, việc ứng dụng trên các đối tượng thủy sản, đặc biệt là cá thực phẩm vẫn đối mặt với nhiều thách thức như chỉnh sửa gen sai mục tiêu

(off-target), hiện tượng bù đắp chức năng của các gen trong cùng họ gen và hiện tượng khảm [43, 44].

Chỉnh sửa gen sai mục tiêu có thể gây đột biến gen không mong muốn, dẫn đến dị tật phôi và thậm chí tử vong [43], ví dụ gen cathelicidin kháng bệnh được chèn vào loài *Ictalurus punctatus* đã làm giảm tỷ lệ sống của phôi [15]. Việc phát hiện các đột biến sai mục tiêu gặp nhiều khó khăn do chưa xác định rõ sự thay đổi nucleotide, nhưng có thể giảm thiểu bằng cách thiết kế chính xác sgRNA, sử dụng kết hợp Cas9 và các biến thể, như nCas9 (nickase Cas9). Đồng thời, tối ưu hóa nồng độ protein sgRNA/Cas9 và sử dụng Cas9 có thời gian bán hủy ngắn cũng giúp giảm các đột biến sai mục tiêu [43]. Một số phương pháp được dùng để phát hiện đột biến sai mục tiêu, bao gồm giải trình tự toàn bộ hệ gen/hệ exon, giải trình tự hệ gen được cắt bằng nuclease trong ống nghiệm (digenome-seq) và GUIDE-seq [45].

Chức năng tương đồng của các paralog trong cùng họ gen (hình thành do hiện tượng nhân đôi gen) là một thách thức khác trong nghiên cứu chỉnh sửa gen. Do đó, cần xác định chức năng của từng bản sao để quyết định có cần chỉnh sửa đồng thời nhiều gen hay không [14]. Công nghệ CRISPR/Cas9 có thể được sử dụng theo hướng chỉnh sửa đa mục tiêu để gây đột biến đồng thời nhiều gen cùng lúc, như trường hợp của các gen *IGFBP-2b* [44]. Tuy nhiên, trong một số trường hợp, việc chỉnh sửa một gen cũng đã đủ tạo ra đặc tính mong muốn, tùy thuộc vào đặc điểm chức năng của từng loài [14].

Hiện tượng khảm là một hạn chế phổ biến khác xuất hiện ở thế hệ F0 của dòng được chỉnh sửa gen, xảy ra khi hệ thống CRISPR/Cas9 được đưa vào phôi và quá trình chỉnh sửa bắt đầu sau giai đoạn tế bào đơn (2n), dẫn đến sự xuất hiện của nhiều hơn một kiểu gen trong một cá thể. Nghiên cứu trên cá hồi Đại Tây Dương *Salmo salar* cho thấy thể khảm tăng lên khi nồng độ hỗn hợp tiêm cao hơn [46]. Để giảm thiểu hiện tượng khảm, có thể sử dụng sgRNA đã được phiên mã *in vitro*, kết hợp protein Cas9 thay vì plasmid hoặc RNA, đồng thời kiểm soát thời gian biểu hiện Cas9, đặc biệt ở giai đoạn hợp tử. Việc sử dụng Cas9 có thời gian bán hủy ngắn và tối ưu hóa quy trình tiêm cũng góp phần giảm hiện tượng này. Ngoài ra, lai tạo thế hệ F1 và sàng lọc kiểu hình, kiểu gen có thể

giúp loại bỏ thể khảm và tạo ra các dòng cá đồng hợp tử ổn định phục vụ cho các chương trình chọn giống tiếp theo [46].

8. Kết luận

Công nghệ chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9 có tiềm năng to lớn trong việc tạo ra các dòng cá được cải tiến di truyền với các đặc điểm vượt trội và đã thành công ở một số loài cá nuôi có thời gian thế hệ dài, như cá hồi Đại Tây Dương, cá da trơn, cá hồi cầu vồng, cá rô phi sông Nile, cá chép, cá tráp biển đỏ, cá chạch, cá tráp biển mõm tù, cá rô phi và cá nóc hồ. Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu về chỉnh sửa gen của cá nuôi đều giới hạn ở quy mô phòng thí nghiệm và ứng dụng của nó chưa được khai thác thương mại trong NTTS do các rào cản kỹ thuật. Các phát triển kỹ thuật của CRISPR/Cas9, cùng với thay đổi về nhận thức của công chúng và điều chỉnh hành lang pháp lý phù hợp, dự kiến sẽ mang lại nhiều lợi ích trong các chương trình nhân giống cá thương mại và NTTS trong những thập kỷ tới.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được hỗ trợ bởi đề tài cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo, mã số B2023-TSN-13. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. Springmann, H.C.J. Godfray, M. Rayner, et al. (2016), “Analysis and valuation of the health and climate change cobenefits of dietary change”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **113(15)**, pp.4146-4151, DOI: 10.1073/pnas.1523119113.
- [2] R.R. Gentry, H.E. Froehlich, D. Grimm, et al. (2017), “Mapping the global potential for marine aquaculture”, *Nat. Ecol. Evol.*, **1(9)**, pp.1317-1324, DOI: 10.1038/s41559-017-0257-9.
- [3] T. Gaj, S.J. Sirk, S.L. Shui, et al. (2016), “Genome-editing technologies: Principles and applications”, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **8(12)**, DOI: 10.1101/cshperspect.a023754.
- [4] Y. Ishino, H. Shinagawa, K. Makino, et al. (1987), “Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*,

and identification of the gene product”, *J. Bacteriol.*, **169(12)**, pp.5429-5433, DOI: 10.1128/jb.169.12.5429-5433.1987.

[5] E. Deltcheva, K. Chylinski, C.M. Sharma, et al. (2011), “CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III”, *Nature*, **471(7340)**, pp.602-607, DOI: 10.1038/nature09886.

[6] L. Cong, F.A. Ran, D. Cox, et al. (2013), “Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems”, *Science*, **339(6121)**, pp.819-823, DOI: 10.1126/science.1231143.

[7] F. Jiang, J.A. Doudna (2017), “CRISPR-Cas9 structures and mechanisms”, *Annual Review of Biophysics*, **46(1)**, pp.505-529, DOI: 10.1146/annurev-biophys-062215-010822.

[8] A.V. Ledesma, A.L.V. Eenennaam (2024), “Global status of gene edited animals for agricultural applications”, *Veterinary Journal*, **305**, DOI: 10.1016/j.tvjl.2024.106142.

[9] Ministry of Agriculture and Environment of Vietnam (2026), *Consolidated Document No. 18/VBHN-BNNMT on Biosafety for Genetically Modified Organisms*, <https://vanban.chinhphu.vn/?pageid=27160&docid=216946>, accessed 19 April 2026 (in Vietnamese).

[10] F.A. Ran, P.D. Hsu, J. Wright, et al. (2013), “Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system”, *Nat. Protoc.*, **8(11)**, pp.2281-2308, DOI: 10.1038/nprot.2013.143.

[11] L.S. Qi, M.H. Larson, L.A. Gilbert, et al. (2013), “Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for sequence-specific control of gene expression”, *Cell*, **152(5)**, pp.1173-1183, DOI: 10.1016/j.cell.2013.02.022.

[12] A.V. Anzalone, P.B. Randolph, J.R. Davis, et al. (2019), “Search-and-replace genome editing without double-strand breaks or donor DNA”, *Nature*, **576(7785)**, pp.149-157, DOI: 10.1038/s41586-019-1711-4.

[13] G. Zhai, T. Shu, K. Chen, et al. (2022), “Successful production of an all-female common carp (*Cyprinus carpio* L.) population using cyp17a1-deficient neomale carp”, *Engineering*, **8(1)**, pp.181-189, DOI: 10.1016/j.eng.2021.03.026.

[14] K. Kishimoto, Y. Washio, Y. Yoshiura, et al. (2018), “Production of a breed of red sea bream *Pagrus major* with an increase of skeletal muscle mass and reduced body length by genome editing with CRISPR/Cas9”, *Aquaculture*, **495**, pp.415-427, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.05.055.

[15] R.M.C. Simora, D. Xing, M.R. Bangs, et al. (2020), “CRISPR/Cas9-mediated knock-in of alligator cathelicidin gene in a non-coding region of channel catfish genome”, *Scientific Reports*, **10(1)**, DOI: 10.1038/s41598-020-79409-5.

[16] T.B. Blix, R.A. Dalmo, A. Wargelius, et al. (2021), “Genome editing on finfish: Current status and implications for sustainability”, *Rev. Aquac.*, **13(4)**, pp.2344-2363, DOI: 10.1111/raq.12571.

[17] Z. Yang, G. Fu, M. Lee, et al. (2025), “Genes for editing to improve economic traits in aquaculture fish species”, *Aquac. Fish.*, **10(1)**, pp.1-18, DOI: 10.1016/j.aaf.2024.05.005.

[18] C.Y. Li, J.R. Steighner, G. Sweatt, et al. (2021), “Manipulation of the tyrosinase gene permits improved CRISPR/Cas editing and neural imaging in cichlid fish”, *Sci. Rep.*, **11(1)**, DOI: 10.1038/s41598-021-94577-8.

[19] M. Coogan, V. Alston, B. Su, et al. (2022), “Improved growth and high inheritance of melanocortin-4 receptor (mc4r) mutation in CRISPR/Cas9 gene-edited channel catfish, *Ictalurus punctatus*”, *Marine Biotechnology*, **24(5)**, pp.843-855, DOI: 10.1007/s10126-022-10146-8.

[20] Z. Yang, F. Wang, Y. Yin, et al. (2023), “Dietary *Litsea cubeba* essential oil supplementation improves growth performance and intestinal health of weaned piglets”, *Anim. Nutr.*, **13**, pp.9-18, DOI: 10.1016/j.aninu.2022.11.004.

[21] K. Kishimoto, Y. Washio, Y. Murakami, et al. (2019), “An effective microinjection method for genome editing of marine aquaculture fish: Tiger pufferfish *Takifugu rubripes* and red sea bream *Pagrus major*”, *Fish. Sci.*, **85(1)**, pp.217-226, DOI: 10.1007/s12562-018-1277-3.

- [22] J. Huang, C. Shi, Y. Gao, et al. (2021), “Heterozygous depletion of *pik3r1* improves growth and feed conversion efficiency in Gibel carp (*Carassius gibelio*)”, *Aquaculture*, **545**, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2021.737207.
- [23] W.J. Cai, J. Li, L. Li, et al. (2021), “Knockout of *tlr1* gene in zebrafish (*Danio rerio*) by CRISPR/Cas9 reveals its roles in regulating feeding behavior”, *Aquaculture*, **545**, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2021.737189.
- [24] Q. Dong, C.H. Nie, Y.M. Wu, et al. (2023), “Generation of blunt snout bream without intermuscular bones by *runx2b* gene mutation”, *Aquaculture*, **567**, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2023.739263.
- [25] Y. Kuang, X. Zheng, D. Cao, et al. (2023), “Generate a new crucian carp (*Carassius auratus*) strain without intermuscular bones by knocking out *bmp6*”, *Aquaculture*, **569**, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2023.739407.
- [26] Z. Zhong, P. Niu, M. Wang, et al. (2016), “Targeted disruption of *sp7* and *myostatin* with CRISPR-Cas9 results in severe bone defects and more muscular cells in common carp”, *Sci. Rep.*, **6(1)**, DOI: 10.1038/srep22953.
- [27] Aqua Culture Asia Pacific (2025), “China creates new virtually ‘bone-free’ fish for the dinner table”, <https://aquaasiapac.com/2025/12/25/china-creates-new-virtually-bone-free-fish-for-the-dinner-table/>, accessed 14 April 2026.
- [28] M.H. Li, H.H. Yang, M.R. Li, et al. (2013), “Antagonistic roles of *Dmrt1* and *Foxl2* in sex differentiation via estrogen production in tilapia as demonstrated by TALENs”, *Endocrinology*, **154(12)**, pp.4814-4825, DOI: 10.1210/en.2013-1451.
- [29] B. Zhu, W. Ge (2018), “Genome editing in fishes and their applications”, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **257**, pp.3-12, DOI: 10.1016/j.ygcen.2017.09.011.
- [30] A. Assefa, F. Abunna (2018), “Maintenance of fish health in aquaculture: Review of epidemiological approaches for prevention and control of infectious disease of fish”, *Vet. Med. Int.*, **2018(1)**, pp.1-10, DOI: 10.1155/2018/5432497.

[31] Y. Li, J. Lai, X. Zhang, et al. (2022), “Development of an RNA anti-parasite based on CRISPR-Cas9 against *Chilodonella piscicola*”, *Aquaculture*, **552**, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2022.738025.

[32] J. Wang, L. Hou, R. Zhang, et al. (2007), “The tyrosinase gene family and albinism in fish”, *Chinese J. Oceanol. Limnol.*, **25(2)**, pp.191-198, DOI: 10.1007/s00343-007-0191-9.

[33] J. Du, H. Chen, B.K. Mandal, et al. (2021), “HDL receptor/scavenger receptor B1-Scarb1 and Scarb1-like mediate the carotenoid-based red coloration in fish”, *Aquaculture*, **545**, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2021.737208.

[34] N.T. Tran, J. Trombke, K. Rajewsky, et al. (2020), “Protocol for efficient CRISPR/Cas9/AAV-mediated homologous recombination in mouse hematopoietic stem and progenitor cells”, *STAR Protocols*, **1(1)**, DOI: 10.1016/j.xpro.2020.100028.

[35] T.H. Nguyen, H.T.T. Mai, D. Moukouanga, et al. (2020), “CRISPR/Cas9-mediated gene editing of the jasmonate biosynthesis *OsAOC* gene in rice”, *Methods Mol. Biol.*, pp.199-209, DOI: 10.1007/978-1-0716-0142-6_15.

[36] B.M. Minh, H.H. Hanh, L.T.T. Hien, et al. (2020), “Construction of CRISPR/Cas9 expression vectors harbouring gRNA targeted on *SLIAA9* gene of tomato”, *Vietnam Journal of Biotechnology*, **18(1)**, pp.147-156, DOI: 10.15625/1811-4989/18/1/15273.

[37] P.C. Hoat, N.T.B. Ngoc, P.L.A. Tuan, et al. (2020), “Prospects for the application of gene editing technology (CRISPR/Cas) for plant and animal breeding in Vietnam”, *The Vietnam Journal of Science and Technology*, **(1+2)**, pp.61-63 (in Vietnamese).

[38] A.D.T. Mai, N.L.T. Anh, N.T.T. Giang, et al. (2022), “Study on creating knockout mouse embryos using CRISPR/Cas9 technology”, *Can Tho University Journal of Science*, **58(5)**, pp.117-123, DOI: 10.22144/ctu.jvn.2022.222 (in Vietnamese).

[39] V.T. Nguyen, V.T.M. Thao, L.L.P. Hanh, et al. (2024), “Exploring the phytochemical diversity and antioxidant potential of the Vietnamese *Smilax glabra* Roxb:

Insights from UPLC-QTOF-MS/MS and zebrafish model studies”, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **196(10)**, pp.7307-7324, DOI: 10.1007/s12010-024-04930-6.

[40] V.T. Nguyen, H.T. Loan, V.T.M. Thao, et al. (2025a), “UPLC-QTOF-MS/MS profiling and antioxidant activity of Ngoc Linh ginseng (*Panax vietnamensis*) hairy root extract from zebrafish: Insights into Keap1/Nrf2-dependent mechanisms”, *Nat. Prod. Res.*, pp.1-7, DOI: 10.1080/14786419.2025.2512563.

[41] V.T. Nguyen, N.Q. Hieu, N.T.K. Lien, et al. (2025b), “C-phycocyanin from *Spirulina platensis* mitigates oxidative stress in zebrafish (*Danio rerio*): Insights into Nrf2-independent mechanisms and aquaculture applications”, *Aquaculture International*, **33(6)**, DOI: 10.1007/s10499-025-02154-x.

[42] T.H.T. Nguyen, K. Quy, T.M.L. Dao (2025), “Construction of a CRISPR vector for inducing TYR gene mutations in anemonefish *Amphiprion ocellaris*”, *Vietnam Journal of Biotechnology*, **23(2)**, pp.159-172, DOI: 10.15625/vjbt-21990.

[43] A. Elasad, K. Khalil, D. Cline, et al. (2018), “Microinjection of CRISPR/Cas9 protein into channel catfish *Ictalurus punctatus* embryos for gene editing”, *J. Vis. Exp.*, **131**, DOI: 10.3791/56275.

[44] B.M. Cleveland, G. Yamaguchi, L.M. Radler, et al. (2018), “Editing the duplicated insulin-like growth factor binding protein-2b gene in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, *Sci. Rep.*, **8(1)**, DOI: 10.1038/s41598-018-34326-6.

[45] T. Koo, J. Lee, J.S. Kim (2015), “Measuring and reducing off-target activities of programmable nucleases including CRISPR-Cas9”, *Molecules and Cells*, **38(6)**, pp.475-481, DOI: 10.14348/molcells.2015.0103.

[46] A.H. Straume, E. Kjærner-Semb, K.O. Skaftnesmo, et al. (2021), “Single nucleotide replacement in the Atlantic salmon genome using CRISPR/Cas9 and asymmetrical oligonucleotide donors”, *BMC Genomics*, **22(1)**, DOI: 10.1186/s12864-021-07823-8.